德氏乳杆菌对育肥猪血脂指标、胆固醇代谢和脂肪沉积相关酶活性及基因 mRNA 表达的影响

李　瑞[1,2]　侯改凤[1,2]　韦良开[1,2]　彭　伟[1,2]　潘　杰[1,2]　黄兴国[1,2*]

（1.湖南农业大学动物科学技术学院，长沙 410128；2.湖南畜禽安全生产协同创新中心，长沙 410128）

摘　要：本试验旨在研究饲粮中添加德氏乳杆菌制剂对育肥猪血脂指标、肝脏胆固醇代谢和脂肪沉积相关酶活性、组织胆固醇代谢和脂肪沉积相关基因 mRNA 表达和皮下脂肪组织形态的影响。试验选用 120 头平均体重为（65.34±3.64） kg 的健康“杜×（长×大）”育肥猪，随机分为 2 组，每组 6 个重复（栏），每个重复 10 头（公母各占 1/2）。对照组饲喂基础饲粮，试验组饲喂在基础饲粮中添加 0.10%德氏乳杆菌制剂的饲粮，预试期 7 d，试验期 42 d。结果显示：1）与对照组相比，试验组育肥猪的血清甘油三酯（TG）（P=0.08）和总胆固醇（TC）（P=0.06）含量均有降低趋势，血清总胆汁酸（TBA）含量显著降低（P<0.05）。2）与对照组相比，试验组育肥猪的肝脏羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶（HMGR）活性有降低趋势（P=0.07），胆固醇 7α–羟化酶活性（CYP7A1）显著增加（P<0.05），脂肪甘油三酯酯酶（ATGL）活性极显著降低（P<0.01）。3）与对照组相比，试验组育肥猪的回肠胆汁酸结合蛋白（*IBABP*）的 mRNA 相对表达量有降低趋势（P=0.07），皮下脂肪过氧化物酶体增殖物激活受体 γ（*PPARγ*）的 mRNA 相对表达量显著增加（P<0.05）；皮下脂肪细胞直径有降低趋势（P=0.09）。结果提示，德氏乳杆菌可通过干扰育肥猪回肠对胆汁酸的吸收来调控肝脏胆固醇和脂肪代谢。

关键词：德氏乳杆菌；育肥猪；酶活性；基因表达

中图分类号：S816.7；S828　　　文献标识码：A　　　文章编号：

收稿日期：2017-02-22

基金项目：国家科技计划课题（2013BAD21B04）；国家自然科学基金项目（31372322）；湖南省战略性新兴产业项目（2014GK1034）

作者简介：李　瑞（1987—），男，湖北潜江人，博士研究生，从事饲料资源开发与利用研究。E-mail: lirui181000@163.com

*通信作者：黄兴国，教授，博士生导师，E-mail: huangxi8379@aliyun.com

胆固醇广泛存在于机体的各种组织和细胞中，对动物细胞膜的结构和功能有重要的作用，是人体必需的营养成分之一。然而，人体长期摄入高脂类食物，血液胆固醇或脂肪含量过高，易导致心血管疾病。目前，心血管疾病是导致全球人类死亡的主要原因[1]。世界卫生组织（WHO）预测，到 2030 年全球将有大约 2 360 万人死于心血管疾病[2]。研究发现，动物的种类、年龄、体重、性别和饲粮等因素均会影响动物组织中养分分配、脂肪酸组成以及脂肪和肌肉组织中胆固醇含量[3-5]。其中饲粮因素备受广大研究者的关注，研究证实，饲粮中添加乳酸菌制剂可有效降低动物血清胆固醇含量，调节机体胆固醇和脂肪代谢[2,6-8]。课题组前期研究表明，德氏乳杆菌（*Lactobacillus delbrueckii*）作为一种乳酸菌制剂可有效降低育肥猪的血清胆固醇含量，改善血脂指标，然而其具体作用机制尚不明确[7-8]。已有诸多有关乳酸菌降低胆固醇含量作用机制的报道，然而多数研究是建立在高脂动物模型的基础上，不能完全反映动物正常的生理代谢情况。鉴此，本试验以脂肪沉积能力较强的育肥猪为研究对象，饲喂添加德氏乳杆菌制剂的饲粮，探讨其对育肥猪胆固醇代谢及组织脂肪沉积的作用机制，为低胆固醇猪肉开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

德氏乳杆菌由湖南农业大学动物科学技术学院功能微生物实验室筛选，武汉大学菌种保藏中心鉴定保藏（保藏号 M207096）。菌种活化后，送至北京国家粮食局科学研究院生产包被为微胶囊菌粉制剂（活菌数≥1.01×10^9 CFU/g）。

1.2 试验饲粮

试验饲粮参照 NRC（1998）育肥猪（60~110 kg）营养需要推荐量配制，基础饲粮组成及营养水平见表 1，饲粮均制成粉料。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diet (air-dry basis) %

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels2)	含量 Content
玉米 Corn	67.83	代谢能 ME/(MJ/kg)	13.36
豆粕 Soybean meal	23.00	粗蛋白质 CP	15.50
麦麸 Wheat bran	4.00	钙 Ca	0.60

豆油 Soybean oil	2.00	总磷 TP	0.55
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.17	有效磷 AP	0.32
食盐 NaCl	0.40	赖氨酸 Lys	1.03
石粉 Limestone	0.60	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.59
预混料 Premix[1)]	1.00	苏氨酸 Thr	0.70
合计 Total	100.00	色氨酸 Trp	0.18

[1)]预混料为每千克饲粮提供 Premix provided the following per kg of the diet：VA 2 512 IU，VD_3 1 200 IU，VE 34 IU，VK_3 1.5 mg，VB_{12} 17.6 μg，核黄素 lactoflavin 2.5mg，泛酸 pantothenic acid 6.8 mg，烟酸 niacin 20.3 mg，氯化胆碱 choline chloride 351 mg，Mn 10 mg，Fe 50 mg，Zn 50 mg，Cu 20 mg，I 0.3 mg，Se 0.3 mg。

[2)]营养水平均为计算值。Nutrient levels were all calculated values.

1.3 试验设计与样品采集

选用平均体重为（65.34±3.64） kg 的健康“杜×（长×大）”育肥猪 120 头，随机分为 2 组，每组 6 个重复（栏），每个重复 10 头（公母各占 1/2）。对照组饲喂基础饲粮，试验组饲喂在基础饲粮中添加 0.10%德氏乳杆菌制剂的饲粮。预试期 7 d，试验期 42 d。试验结束时，每栏选取体重相近的试验猪各 1 头，空腹 24 h 后进行前腔静脉采血，随后电击处死，屠宰分离回肠、肝脏、皮下脂肪和背最长肌组织进行样品采集。血液静置 30 min 后，3 000 r/min 离心 10~15 min，分离血清，分装于 1.5 mL EP 管，–20 ℃冰箱保存；回肠、肝脏、皮下脂肪和背最长肌组织各选取 5~10 g，用锡箔纸包裹后放入–80 ℃冰箱保存；切取 1 cm×1 cm×2 cm 皮下脂肪组织样品，在生理盐水中漂洗干净后，转入装有 10%福尔马林的 10 mL EP 管中进行固定。

1.4 饲养管理

饲养试验于 2013 年 5 月 31 日至 2013 年 7 月 11 日在湖南攸县天心 502 网岭四监区原种猪场进行。试验期间，每天 09：00 和 16：00 各喂料 1 次，猪自由采食和饮水，其他饲养管理及免疫程序与猪场一致。

1.5 指标检测与方法

1.5.1 血脂指标

利用迈瑞 BS–200 全自动生化分析仪测定血清甘油三酯（TG）、总胆固醇（TC）、葡萄糖（GLU）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）和总胆汁酸（TBA）的含量，所测指标严格按照相关试剂盒说明书进行操作。

1.5.2　肝脏胆固醇代谢和脂肪沉积相关酶活性

称取 0.5 g 左右肝脏样品转入 10 mL 离心管，加入 5 mL 磷酸盐缓冲液（PBS）（pH=7.4），用匀浆器充分匀浆，2 000~3 000 r/min 离心 20 min，收集上清 400 μL，分装入 1.5 mL EP 管。利用上海博谷生物科技有限公司提供的 Elisa 试剂盒检测肝脏中羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶（hydroxymethylglutaryl CoA reductases，HMGR）和胆固醇 7α–羟化酶（cholesterol -7alpha-hydroxylase，CYP7A1）活性。利用长沙布兰哲生物科技有限公司提供的 Elisa 试剂盒检测检测肝脏中脂蛋白酯酶（lipoprotein lipase，LPL）、激素敏感酯酶（hormone-sensitive lipase，HSL）和脂肪甘油三酯酯酶（adipose triglyceride lipase，ATGL）活性。

1.5.3　组织胆固醇代谢和脂肪沉积相关基因 mRNA 表达量

总 RNA 提取与反转录：回肠、肝脏、背最长肌和皮下脂肪组织样品分别放入装有液氮的研钵中迅速研磨至糊状，取 20 mg 左右样品，采用 Trizol 一步法提取样品中的总 RNA，利用 gDNA Eraser 去除基因组痕量 DNA 污染，然后用核酸蛋白定量检测仪（NANODROP 2000）检测总 RNA 的浓度和纯度，取 0.5 μg 总 RNA 进行 1.0%琼脂糖凝胶电泳，检测其完整性。参照 Prime Script^{RT} Master Mix 反转录试剂盒说明书，反应体系为 20 μL，将 RNA 反转录合成 cDNA，–80 ℃保存。

引物设计与实时荧光定量 PCR：根据 NCBI 中 GenBank 发表的基因序列，采用 Primer premier 5.0 软件设计猪 β–肌动蛋白（β-actin）、低密度脂蛋白受体（*LDLR*）、高密度脂蛋白受体（*HDLR*）、顶膜钠盐依赖胆汁酸转运体（apical sodium-dependent bile acid transporter，*ASBT*）、回肠胆汁酸结合蛋白（ileal bile acid binding protein，*IBABP*）、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ（peroxisome proliferators activated receptor γ，*PPARγ*）和脂肪细胞分化决定因子 1（adipocyte differentiation decision factor 1，*ADD*1）基因的上、下游引物，引物序列交由上海生物工程股份有限公司合成（表 2）。利用 ABI 7900HT 实时定量 PCR 仪（ABI，美国）进行 PCR，PCR 反应体系为 20 μL：SYBR® Premix Ex Taq II 12.5 μL，上、下游引物各 1.0 μL，cDNA 模板 2 μL，dH_2O 3.5 μL。PCR 反应条件：酶激活 95 ℃，30 s；40 个循环（95 ℃5 s，

60 ℃30 s），以 β-actin 为内参基因，对获得的信号、数据进行处理。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的 mRNA 相对表达量。

表 2　引物序列

Table 2　Primer sequences

基因 Genes	登录号 Accession No.	引物序列 Primer sequences (5'—3')	产物长度 Product length/bp
低密度脂蛋白受体 *LDLR*	NM_001206354.2	F: GATGGATGGAGGGATACAGAAG R: ACCAGGCAGAGGTAAACACATT	129
高密度脂蛋白受体 *HDLR*	NM_213967.1	F: TCCCTTTCTACCTCTCCGTCTA R: CTTGTGCCTGAACTCCCTGTA	119
顶膜钠盐依赖胆汁酸转运体 *ASBT*	EF472590.1	F: GCTGGCTCTGGGAATGATG R: CGATGGACACAGGAACAATAAG	131
回肠胆汁酸结合蛋白 *IBABP*	NM_214215.2	F: GCAAGGAGTGCGACATAGAGAC R: TGGTGGTAGTTGGGGCTGTT	100
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ *PPARγ*	NM_214379.1	F: GCATTTCCACTCCACACTATGA R: CACTTTGATGGCACTTTGGTAG	110
脂肪细胞分化决定因子 1 *ADD1*	AY_496867.1	F: TTTGAGGACAGCCAGATGAAG R: GCAGGAGAGACAGAGGAAGAC	111
β–肌动蛋白 β-actin	Q8SPK6	F: CTGCGGCATCCACGAAACT R: AGGGCCGTGATCTCCTTCTG	147

1.5.4　皮下脂肪组织形态学观察

固定好的皮下脂肪组织样品，采用石蜡切片技术制片。利用 Motic 生物倒置显微镜（400×）对制作好的脂肪组织切片进行观察并摄像采集图像，每张切片随机选取脂肪组织形态结构完好、轮廓清晰、利于测定的 6 个视野进行拍照取图，并结合 Motic 显微图像分析系统检测脂肪组织细胞的数量、直径和面积。

1.6　数据统计与分析

试验数据经 Excel 2003 软件整理，采用 SPSS 17.0 统计软件进行 *t* 检验，以 $P<0.05$ 作为差异显著性判断标准，结果均以“平均值（M）±标准差（SD）”表示。

2 结果与分析

2.1 德氏乳杆菌对育肥猪血脂指标的影响

由表 3 可知，试验组育肥猪的血清 TG、TC、GLU 和 LDL-C 含量分别较对照组降低了 8.70%、7.22%、8.70%和 6.30%，血清 HDL-C 含量和 HDL-C/LDL-C 分别较对照组增加了 2.70%和 10.34%，但差异均不显著（$P>0.05$）；血清 TBA 含量较对照组显著降低了 38.59%（$P<0.05$）。

表 3 德氏乳杆菌对育肥猪血脂指标的影响

Table 3 Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on serum lipid indexes of finishing pigs

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group	*P* 值 *P*-value
甘油三酯 TG/(mmol/L)	4.83±0.52	4.41±0.52	0.08
总胆固醇 TC/(mmol/L)	1.94±0.51	1.80±0.94	0.06
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	4.83±0.52	4.41±0.52	0.12
总胆汁酸 TBA/(μmol/L)	113.98±6.04^{a}	70.00±8.86^{b}	0.03
高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C/(mmol/L)	1.11±0.16	1.14±0.21	0.14
低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C/(mmol/L)	1.27±0.27	1.19±0.34	0.16
高密度脂蛋白胆固醇/低密度脂蛋白胆固醇 HDL-C/LDL-C	0.87±0.49	0.96±0.53	0.12

同行数据肩标相同字母或无字母表示差异不显著（$P>0.05$），不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），不同大写字母表示差异极显著（$P<0.01$）。下表同。

In the same row, values with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), and with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$). The same as below.

2.2 德氏乳杆菌对育肥猪肝脏胆固醇代谢和脂肪沉积相关酶活性的影响

由表 4 可知，试验组育肥猪肝脏 HMGR 和 LPL 活性较对照组分别降低了 10.80%和 3.31%，但差异均不显著（P>0.05）；ATGL 活性较对照组极显著降低了 22.37%（P<0.01）。与对照组相比，试验组育肥猪肝脏 CYP7A1 和 HSL 活性分别增加了 25.79%（P<0.05）和 0.56%（P>0.05）。

表 4　德氏乳杆菌对育肥猪肝脏胆固醇代谢和脂肪沉积相关酶活性的影响

Table 4　Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on the enzyme activities related to cholesterol metabolism and fat deposition in liver of finishing pigs

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group	P 值 P-value
羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 HMGR/(ng/mL)	3 752.02±180.28	3 346.96±269.38	0.07
胆固醇 7α–羟化酶 CYP7A1/(ng/mL)	978.57±50.23^{a}	1 230.91±80.08^{b}	0.03
脂蛋白酯酶 LPL/(U/mL)	401.01±53.49	387.73±69.54	0.31
激素敏感酯酶 HSL/(U/mL)	2 040.33±176.88	2 051.75±149.25	0.58
脂肪甘油三酯酯酶 ATGL/(U/mL)	3 889.75±567.31^{A}	3 019.50±133.05^{B}	<0.01

2.3　德氏乳杆菌对育肥猪组织胆固醇代谢和脂肪沉积相关基因 mRNA 相对表达量的影响

由表 5 可知，与对照组相比，试验组育肥猪肝脏 *LDLR* 和 *HDLR* 的 mRNA 相对表达量分别增加了 5.41%和 5.77%，但差异均不显著（P>0.05）；回肠 *ASBT* 和 *IBABP* 的 mRNA 相对表达量分别降低了 3.52%和 11.11%，但均无显著差异（P>0.05）；皮下脂肪 *PPARγ* 和 *ADD*1 的 mRNA 相对表达量分别增加了 29.70%（P<0.05）和 13.33%（P>0.05）；背最长肌 *PPARγ* 和 *ADD*1 的 mRNA 相对表达量分别增加了 9.62%和 24.32%，但差异均不显著（P>0.05）。

表 5　德氏乳杆菌对育肥猪组织胆固醇代谢和脂肪沉积相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Table 5　Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on the genes mRNA relative expression related to cholesterol metabolism and fat deposition in tissues of finishing pigs

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group	P 值 P-value
肝脏 Liver			
低密度脂蛋白受体 *LDLR*	1.48±0.32	1.56±0.45	0.21

高密度脂蛋白受体 *HDLR*	1.04±0.28	1.10±0.26	0.14
回肠 Ileum			
顶膜钠盐依赖胆汁酸转运体 *ASBT*	2.35±0.38	2.27±0.26	0.45
回肠胆汁酸结合蛋白 *IBABP*	0.63±0.14	0.56±0.11	0.07
皮下脂肪 Subcutaneous fat			
脂肪细胞分化决定因子 1 *ADD*1	0.30±0.04	0.34±0.06	0.19
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ *PPARγ*	1.01±0.25[a]	1.31±0.24[b]	0.04
背最长肌 *Longissimus dorsi*			
脂肪细胞分化决定因子 1 *ADD*1	0.37±0.13	0.46±0.29	0.18
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ *PPARγ*	0.52±0.17	0.57±0.19	0.20

2.4 德氏乳杆菌对育肥猪皮下脂肪组织形态的影响

由表 6 可知，试验组育肥猪的皮下脂肪细胞数量、直径和面积分别较对照组分别降低了 5.81%、6.69%和 4.76%，但差异均不显著（P>0.05）。

表 6 德氏乳杆菌对育肥猪皮下脂肪组织形态的影响

Table 6 Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on histomorphology of subcutaneous fat of finishing pigs

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group	*P* 值 *P*-value
脂肪细胞数量 Numbers of fat cell/(个/mm^2)	240.25±43.31	226.73±52.79	0.19
脂肪细胞直径 Fat cell diameter/μm	67.75±7.31	63.50±5.05	0.09
脂肪细胞面积 Fat cell area/μm^2	3 427.24±76.92	3 271.62±67.34	0.38

3 讨 论

3.1 德氏乳杆菌对育肥猪血脂指标的影响

血液中的各项生理指标检测可评定动物机体的代谢和健康状况。育肥期猪的脂肪蓄积旺盛，生长较为缓慢，随着体重的增加体脂沉积能力增强[9-10]。测定血清 GLU 含量、血脂等指标可在一定程度上反映育肥猪机体脂肪代谢和脂肪沉积能力。本研究显示，试验组育肥猪的血清 TG、TC、GLU 和 LDL-C 含量较对照组降低，血清 HDL-C 含量和 HDL-C/LDL-C 较对照组增加，说明德氏乳杆菌在调控育肥猪脂肪代谢、改善血脂状况和减缓机体脂肪沉积

方面发挥了作用。与此同时，血清 TC、HDL-C、LDL-C 和 TBA 含量作为机体胆固醇代谢的重要生化指标。试验组育肥猪的血清 TC 和 LDL-C 含量较对照组降低，说明德氏乳杆菌可降低育肥猪血清胆固醇含量，这与诸多有关乳酸菌降低血清胆固醇含量的报道相一致[11-12]。TBA 是胆固醇在肝脏中经 CYP7A1 分解产生的主要代谢产物，血清 TBA 含量可反映肝脏对胆固醇的利用状况[10]。试验组育肥猪的血清 TBA 含量较对照组显著降低，说明血液供给肝脏合成胆汁酸的胆固醇减少，这与试验组血清 TC 含量的变化相吻合。血清 HDL-C 含量、HDL-C/LDL-C 可反映机体胆固醇清除能力，试验组育肥猪的血清 HDL-C 含量和 HDL-C/LDL-C 较对照组增加，说明胆固醇转运至肝脏的效率提高，机体降解清除胆固醇的能力增强，这也与血清 TC 含量降低相一致。研究发现，乳酸菌降低血清胆固醇含量的机制与其在肠道定植、生长、繁殖中产生的胆盐水解酶（BSH）有关，具有 BSH 活性的菌体可消耗肝脏合成流入肠道的胆盐，使得随粪便排出的胆汁酸含量增加，进而引起肝脏利用胆固醇合成胆汁酸增加，起到降低血清胆固醇含量的功效[13]。前期研究发现，德氏乳杆菌可促进肠道胆汁酸和胆固醇随粪便排出[7,10]。由此可见，德氏乳杆菌降低血清胆固醇含量的机制可能与 BSH 促进肠道胆汁酸排泄有关。

3.2　德氏乳杆菌对育肥猪肝脏胆固醇代谢和脂肪沉积相关酶活性的影响

肝脏是胆固醇和胆汁酸合成的主要场所，HMGR 和 CYP7A1 分别是动物机体胆固醇和胆汁酸合成的关键酶。研究发现，饮食调控可干扰肠道对胆固醇和胆汁酸的吸收，增加粪便胆固醇和胆汁酸的排泄，调控肝脏 HMGR、CYP7A1 活性和 mRNA 表达[14-17]。李瑞等[10]报道，德氏乳杆菌可促进肠道胆汁酸和胆固醇的排泄。本试验中，与对照组相比，试验组育肥猪肝脏 HMGR 活性降低，CYP7A1 活性显著升高。HMGR 活性降低，肝脏内源胆固醇合成减少，血清 TC 含量降低，运输血清胆固醇的 LDL-C 含量也相应降低；CYP7A1 活性升高，肝脏胆汁酸合成增加，胆固醇分解代谢加强，血清胆固醇转运至肝脏的效率提高，血清 HDL-C 含量增加[18]。本试验血脂指标测定也获得类似结果。

LPL、HSL 和 ATGL 在脂肪细胞 TG 合成和降解中发挥着重要作用。LPL 是脂肪细胞获取游离脂肪酸（FFA）的关键酶，LPL 可将血液中的乳糜微粒（CM）和极低密度脂蛋白（VLDL）所携带的 TG 催化降解为甘油和 FFA，FFA 通过细胞表面的 CD36 途径进入细胞[19]。HSL 和 ATGL 则是脂肪细胞内 TG 水解的限速酶[20]。本研究中，试验组育肥猪肝

脏 LPL 和 ATGL 活性较对照组降低，说明肝脏中脂肪细胞 TG 合成途径受到抑制，TG 等脂质合成减少，同时 TG 降解受到抑制，甘油和 FFA 的释放减少。这表明，德氏乳杆菌在预防脂肪肝方面具有一定作用。

3.3 德氏乳杆菌对育肥猪组织胆固醇代谢和脂肪沉积相关基因 mRNA 表达和皮下脂肪组织形态的影响

血液中的胆固醇主要以 LDL-C 和 HDL-C 这 2 种脂蛋白的形式进行运输。LDLR 是一类单链跨膜糖蛋白膜受体，几乎存在于所有细胞膜上，其主要功能是介导血浆中富含胆固醇酯的极低密度脂蛋白胆固醇（VLDL-C）和 LDL-C 进入组织细胞内代谢，清除血管中的多余脂质（特别是胆固醇），而血液中的低密度脂蛋白（LDL）是由 VLDL 转变而来，因而血液中胆固醇的运输形式以 LDL-C 为主，其运输量占总运输量的 2/3[21-22]。细胞表面的 LDLR 不足或缺失，会导致细胞对血液中的 LDL-C 摄入量减少，使细胞对胆固醇的利用降低或无法利用，引起胆固醇在血管中沉积进而引发心血管疾病[23]。机体多余的胆固醇还可以 HDL-C 的形式运输至肝脏进行代谢，此过程称为胆固醇的逆向转运（RCT），高密度脂蛋白（HDL）在此过程扮演着清道夫的角色，HDL 携带血液中的胆固醇，与肝细胞表面的 HDLR 结合，进入肝细胞中进行代谢生成胆汁酸等来降低血清中的胆固醇含量，肝细胞表面 HDLR 的数量在一定程度上决定着进入肝脏代谢的血清胆固醇量[24-25]。本研究中，试验组育肥猪肝脏 *LDLR* 和 *HDLR* 的 mRNA 表达量均较对照组增加，表明肝脏胆固醇代谢增强，这为血清 TC 含量降低提供了依据。

动物肠道对胆汁酸的重吸收是胆汁酸循环的重要环节，主要在回肠段进行[26]。胆汁酸流经回肠时，回肠顶端 ASBT 介导胆汁酸转运，再与 IBABP 结合，由基侧膜的终末腔面钠盐依赖的胆汁酸转运体（tASBT）重吸收入血液经门静脉返回肝脏。正常情况下，机体 95%的胆汁酸可由 ASBT 介导重吸收。研究表明，中断胆汁酸肠肝循环，可增强肝脏细胞中胆固醇代谢，降低血清 LDL-C 含量。另外，*ASBT* 的表达与肠道中胆汁酸池的大小、粪固醇排泄量和 CYP7A1 活性等有关[27-29]。本研究中，试验组育肥猪回肠 *ASBT* 和 *IBABP* 的 mRNA 表达量均较对照组降低，说明回肠胆汁酸重吸收受到影响，可能引发胆汁酸肠肝循环变化。研究显示，饲喂德氏乳杆菌饲粮育肥猪肝脏 CYP7A1 活性增强，粪胆酸排放量增加[7,10]。由此可以推断，德氏乳杆菌降低育肥猪血清胆固醇含量的机制可能与其干扰回肠段胆汁酸循环有

关，这与 De Rodas 等[30]的推测结果相一致，但其具体的干扰过程还有待研究。

肌内和皮下脂肪是鉴定猪肉品质的重要指标，组织中脂肪沉积是由一系列与脂肪细胞分化相关的转录因子来调控。ADD1 是动物脂肪代谢中重要的核转录因子，它通过调节脂肪代谢相关酶的基因表达来调控动物体内的脂肪合成[31]。PPARγ 是调控脂肪细胞分化的关键因子，激活后能调节脂类代谢靶基因的表达，许多脂肪酸转运和代谢有关的基因在转录水平都受 PPARγ 的调节[32]。研究表明，脂肪组织中 *PPARγ* 基因表达量增加，常伴随血液葡萄糖和血脂含量降低现象[33-34]。本研究结果与之一致。由此可见，德氏乳杆菌对组织中脂肪细胞分化转录因子的表达量和活性具有一定作用，进而对机体脂肪沉积具有调节效应。此外，本研究中皮下脂肪组织形态学结果显示，试验组育肥猪皮下脂肪组织中细胞数量、直径、面积在数值上均较对照组降低，这也从侧面反映了德氏乳杆菌对育肥猪体脂沉积的调节作用。

4 结 论

饲粮中添加 0.10%德氏乳杆菌可影响育肥猪回肠对胆汁酸的重吸收，干扰胆汁酸肠肝循环，调控肝脏胆固醇和脂肪代谢。

参考文献：

[1] PARRA V,PETRÓN M J,MARTÍN L,et al.Modification of the fat composition of the Iberian pig using *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis*[J].European Journal of Lipid Science and Technology,2010,112(7):720–726.

[2] LI C,NIE S P,DING Q,et al.Cholesterol-lowering effect of *Lactobacillus plantarum* NCU116 in a hyperlipidaemic rat model[J].Journal of Functional Foods,2014,8:340–347.

[3] NUERNBERG K,FISCHER K,NUERNBERG G,et al.Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition,meat quality,sensory characteristics and muscle structure in pigs[J].Meat Science,2005,70(1):63–74.

[4] WOOD J D,ENSER M,NUTE A V,et al.Fat deposition,fatty acid composition and meat quality:a review[J].Meat Science,2008,78(4):343–358.

[5] GUILLEVIC M,KOUBA M,MOUROT J.Effect of a linseed diet or a sunflower diet on performances,fatty acid composition,lipogenic enzyme activities and stearoyl-CoA-desaturase activity in pig[J].Livestock Science,2009,124(1/2/3):288–294.

[6] FUENTES M C,LAJO T,CARRIÓN J M,et al.Cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527,7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults[J].British Journal of Nutrition,2013,109(10):1866–1872.

[7] 李瑞.德氏乳杆菌对育肥猪胆固醇代谢的影响研究[D].硕士学位论文.长沙:湖南农业大学,2014.

[8] 侯改凤.德氏乳杆菌对育肥猪生长性能、猪肉品质及脂肪沉积影响研究[D].硕士学位论文.长沙:湖南农业大学,2015.

[9] 杨公社.猪生产学[M].北京:中国农业出版社,2002:234–236.

[10] 李瑞,侯改凤,刘明,等.德氏乳杆菌对育肥猪生产性能、血脂指标及粪和组织中总胆固醇和总胆汁酸含量的影响[J].动物营养学报,2015,27(1):247–255.

[11] MEUNIER A,LALANNE F,NICOLLE C,et al.Blood-cholesterol-lowering strain of *Lactobacillus delbrueckii*:United States Patent 8652461[P].2014-02-18.

[12] SONG M,PARK S,LEE H,et al.Effect of *Lactobacillus acidophilus* NS1 on plasma cholesterol levels in diet-induced obese mice[J].Journal of Dairy Science,2015,98(3):1492–1501.

[13] 张董燕,季海峰,王四新,等.猪源唾液乳杆菌对生长猪生长性能、粪中微生物数量及血清指标的影响[J].动物营养学报,2014,26(3):725–731.

[14] 张剑峰.牛磺酸、低聚木糖和益生菌对蛋鸡生产及胆固醇沉积的影响[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2011.

[15] 谢宁.两株乳酸杆菌对高脂饮食大鼠胆固醇影响及相关机制研究[D].博士学位论文.长沙:中南大学,2011.

[16] HOSOMI R,FUKUNAGA K,ARAI H,et al.Effects of dietary fish protein on serum and liver lipid concentrations in rats and the expression of hepatic genes involved in lipid metabolism[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2009,57(19):9256–9262.

[17] GILARDI F,MITRO N,GODIO C,et al.The pharmacological exploitation of cholesterol 7α-hydroxylase,the key enzyme in bile acid sythesis:from binding resins to chromatin remodelling to reduce plasma cholesterol[J].Pharmacol Therapeut,2007,116(3):449–472.

[18] 廖端芳,唐朝克.胆固醇逆向转运基础与临床[M].北京:科学出版社,2009:19–20.

[19] GOLDBERG I J,ECJEL R H,ABUMRAD N A.Regulation of fatty acid uptake into tissues:lipoprotein lipase-and CD36-mediated pathways[J].Journal of Lipid Research,2008,50(S1):S86–S90.

[20] FRÜHBECK G,MÉNDEZ-GIMÉNEZ L,FERNÁNDEZ-FORMOSO J A,et al.Regulation of adipocyte lipolysis[J].Nutrition Research Reviews,2014,27(1):63–93.

[21] 张明明,宋光耀.高胆固醇血症低密度脂蛋白受体基因突变的研究进展[J].河北医科大学学报,2011,32(7):866–868.

[22] ABISAMBRA J F,FIORELI T,PADMANABHAN J,et al.*LDLR* expression and localization are altered in mouse and human cell culture models of alzheimer's Disease[J].PLoS One,2010,5(1):e8556.

[23] KULSETH M A,BERGE K E,BOGSRUD M P,et al.Analysis of *LDLR* mRNA in patients with familial hypercholesterolemia revealed a novel mutation in intron 14,which activates a cryptic splice site[J].Journal of Human Genetics,2010,55(10):676–680.

[24] KRAUSE B R,AUERBACH B J.Reverse cholesterol transport and future pharmacological approaches to the treatment of atherosclerosis[J].Current Opinion in Investigational Drugs,2001,2(3):375–381.

[25] 张慧平,孙福成,王抒.高密度脂蛋白与动脉粥样硬化和冠心病[J].中国动脉硬化杂志,2004,12(6):733–736.

[26] WONG M H,OELKERS P,DAWSON P A.Identification of a mutation in the ileal sodium-dependent bile acid transporter gene that abolishes transport activity[J].Journal of Biological Chemistry,1995,270(45):27228–27234.

[27] CHEN F,MA L,AL-ANSARI N,et al.The role of AP-1 in the transcriptional regulation of the rat apical sodium-dependent bile acid transporter[J].Journal of Biological Chemistry,2001,276(42):38703–38714.

[28] SHNEIDER B L,DAWSON P A,CHRISTIE D M,et al.Cloning and molecular characterization of the ontogeny of a rat ileal sodium-dependent bile acid transporter[J].Journal of Clinical Investigation,1995,95(4):745–754.

[29] XU G,SHNEIDER B L,SHEFER S,et al.Ileal bile acid transport regulates bile acid pool,synthesis,and plasma cholesterol levels differently in cholesterol-fed rats and rabbits[J].Journal of Lipid Research,2000,41(2):298–304.

[30] DE RODAS B Z,GILLILAND S E,MAXWELL C V.Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet[J].Journal of Dairy Science,1996,79(12):2121–2128.

[31] FORETZ M,GUICHARD P,FERRÉ P.Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1999,96(22):12737–12742.

[32] XU C,WANG L L,LIU H Y,et al.A novel dual peroxisome proliferator-activated receptors α and γ agonist with beneficial effects on insulin resistance and lipid metabolism[J].Biotechnology Letters,2006,28(12):863–868.

[33] 宋冰,刘学政.大黄素对 KKAy 糖尿病小鼠脂肪组织 *PPAY-α* 及 *PPAY-γ* 表达影响的实验研究[J].北京中医药大学学报,2012,35(10):692–695.

[34] 段颖,郭翔宇,孙文,等.番石榴叶提取物调节小鼠脂肪组织 *TNF-α*、*PPAR-γ* 基因表达改善肝脏糖调节机制研究[J].中华中医药杂志,2014,29(5):1622–1625.

Effects of *Lactobacillus Delbrueckii* on Serum Lipid Indexes, Enzyme Activities and Genes mRNA Expression Related to Cholesterol Metabolism and Fat Deposition of Finishing Pigs

LI Rui[1,2] HOU Gaifeng[1,2] WEI Liangkai[1,2] PENG Wei[1,2] PAN Jie[1,2] HUANG Xingguo[1,2*]

(1. *College of Animal Science and Technology*, *Hunan Agricultural University*, *Changsha* 410128, *China;* 2. *Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha* 410128, *China*)

Abstract: The experiment was conducted to study the effects of dietary *lactobacillus delbrueckii* preparation on serum lipid indexes, enzyme activities in liver and genes mRNA expression in tissues related to cholesterol metabolism and fat deposition and histomorphology of subcutaneous fat of finishing pigs. One hundred and twenty healthy Duroc×(Landrace×Yorkshire) finishing pigs

*Corresponding author, professor, E-mail: huangxi8379@aliyun.com （责任编辑 李慧英）

with average body weight of (65.34±3.64) kg were randomly divided into two groups with six replicates (pens) per group and ten pigs per replicate (males and females in half). Pigs in the control group were fed a basal diet, while others in the experimental group were fed the basal diet supplemented with 0.10% *lactobacillus delbrueckii* preparation. The pre-test lasted for 7 days and the experiment lasted for 42 days. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the contents of triglyceride (TG) (P=0.08) and total cholesterol (TC) (P=0.06) in serum of finishing pigs in the experimental group had a decrease trend, and the content of total bile acid (TBA) in serum was significantly decreased (P<0.05). 2) Compared with the control group, the activity of hydroxymethylglutaryl CoA reductases (HMGR) in liver of finishing pigs in the experimental group had a decrease trend (P=0.07), the activity of cholesterol-7alpha-hydroxylase (CYP7A1) was significantly increased (P<0.05), and the activity of adipose triglyceride lipase (ATGL) was significantly decreased (P<0.01). 3) Compared with the control group, the mRNA relative expression of ileal bile acid binding protein (*IBABP)* of finishing pigs in the experimental group had a decrease trend (P=0.07), and the mRNA relative expression of peroxisome proliferators activated receptor γ (*PPARγ*) in subcutaneous fat was significantly increased (P<0.05). Subcutaneous fat cell diameter had a decrease trend compared with the control group (P=0.09). The results indicate that *Lactobacillus delbrueckii* can regulate cholesterol and lipid metabolism in liver via influencing bile acid absorption in ileum of finishing pigs.

Key words: *Lactobacillus delbrueckii*; finishing pigs; enzyme activities; genes expression